

腫瘍の進展を制御する内皮間葉移行(EndMT)における Vasohibin-2 の役割

[1] 組織

代表者：渡部 徹郎

(東京医科歯科大学)

対応者：佐藤 靖史

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

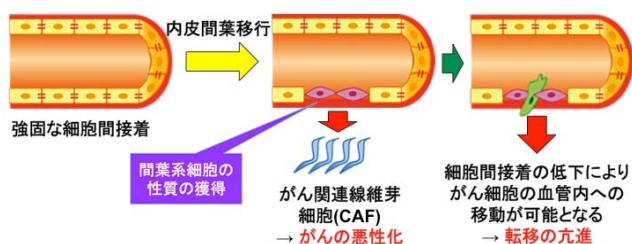
吉松 康裕 (東京医科歯科大学)

井上カタジナアンナ (東京医科歯科大学)

研究費：物件費 40 万

[2] 研究経過

腫瘍組織における「がん間質」に存在する「がん関連線維芽細胞(CAF)」にはがん細胞の増殖と悪性化を誘導することが明らかとなっているため、その生成機構の解明は重要な意義を持つ。近年 CAF の約 3 割が血管内皮細胞から内皮間葉移行(EndMT)という過程を経て生成することが報告された。さらに、EndMT により血管の細胞間接着が低下し、がん細胞が血管内に侵入しやすくなることにより、がん転移が亢進することから、がんの悪性化における EndMT



の重要性に注目が集まっている。

申請者はこれまで血管内皮細胞が TGF- β により間葉系細胞へと分化することを見出してきた。しかし、EndMT を誘導するがん微小環境における因子は他にも存在することが予想され、CAF の形成を誘導する EndMT を標的とした腫瘍制御の新たな方法を開発するためには、がんの悪性化を誘導する新規 EndMT 誘導因子の同定が急務である。一方、加齢研担当教員である佐藤 靖史教授は血管内皮細胞により産生される Vasohibin (VASH)ファミリーメンバー (VASH1 ならびに VASH2)が血管内皮細胞の増殖を

調節することを報告してきた。しかし、VASH ファミリーメンバーが EndMT に対してどのような作用をしているかについては未解明な部分が多く残されている。申請者はそこで、本研究においては VASH ファミリーメンバーの EndMT を介した CAF の生成における役割を検討することで、腫瘍制御の新しい方法を確立することを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。申請者はすでに TGF- β が EndMT を誘導することを報告している。そこで本研究においては、まず TGF- β による EndMT の誘導に対する VASH1 ならびに VASH2 の作用について検討を行う。すでに VASH2 が卵巣がん細胞の EMT を誘導することを見出しており、その機序として VASH2 が TGF- β 受容体の発現を亢進することを明らかにしているため、VASHs が単独または TGF- β と協調的に EndMT を亢進することを検討するとともに、その分子機序として EMT と共通のものがあるか検討する。また、VASHs が TGF- β による EndMT の誘導に対する作用を検討するにあたって、VASHs によるシグナルとクロストークする可能性がある細胞内シグナルの作用についても検討を進める。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

がん微小環境における血管を構成する血管内皮細胞は、VASH2 などをはじめとして様々なサイトカインの曝露を受けてその性質を変化させる。我々はこうした腫瘍血管内皮細胞においても TGF- β による EndMT の誘導が観察されるか検討するために、ヒト悪性黒色腫細胞をマウス皮下に移植して得られる腫瘍組織から調製した腫瘍血管内皮細胞 (tumor endothelial cells: TEC) を用いて検討を行った。TEC における遺伝子発現を解析するために cDNA マイクロアレイを施行した結果、TEC においては血管内皮細胞の増殖を亢進する線維芽細胞成長因子 (fibroblast growth factor-2: FGF-2) の発現が高いことを見出した。さらに、興味深いことに、FGF-2 が TGF- β による EndMT の誘導を抑制することが明らかとした。さらに、TEC においては FGF 受容体の発現が TGF- β 刺

激により上昇することが示され、TECがFGF-2を産生することにより、がん微小環境において豊富に存在するTGF- β によるEndMTに対して自らを防御しているという現象を見出した。

さらにFGFがどのような機序でTGF- β によるEndMTの誘導を抑制するか検討した。FGFシグナルによりTECにおいて様々な細胞内シグナル伝達因子ならびに転写因子がリン酸化されるが、我々はそのような転写因子の中でElk1に着目した。Elk1転写因子はSMA遺伝子のプロモーターに結合することで、TGF- β により活性化されSMA遺伝子プロモーターに結合するMRTFファミリー転写因子の機能を阻害し、SMA遺伝子発現の低下を誘導することが平滑筋細胞の分化において報告されている。我々はTECにおけるElk1発現をsiRNAを用いて低下させて、TGF- β により誘導されるEndMTの指標（細胞形態の変化、間葉系細胞マーカーであるSMAなどの発現上昇）が変化するか検討した。その結果、TGF- β によるTECのEndMTの誘導においてElk1が必要であることを見出した。本結果により、TGF- β とFGFという2つの細胞内シグナルが核内において2つの拮抗する転写因子を活性化することでEndMTを制御するという興味深い現象が明らかとなった。

（3-2）波及効果と発展性など

本研究から得られる成果は基礎生物学そして臨床医学など多岐に渡って大きなインパクトを与えることが期待される。基礎生物学については、まだ未解明な部分が多い腫瘍進展におけるEndMTの役割が解明される点で意義が大きい。また、本研究から得られる成果は、腫瘍制御の新たな戦略の構築のために有用であることが期待され、EndMTに対して作用する新規因子が同定されれば知的財産の創出が期待できるとともに、新たな治療方法の開発につながる可能性があるため、臨床医学における意義は大きい。

[4] 成果資料

Fukuhara T, Kim J, Hokaiwado S, Nawa M, Okamoto H, Kogiso T, Watabe T, Hattori N. A novel immunotoxin reveals a new role for CD321 in endothelial cells. *PLoS One*. 2017 12:e0181502.